

Raspado corneal en la lámpara de hendidura: cómo, cuándo, por qué y para qué se realiza la toma de muestra

María Agustina Borrone

Hospital General de Agudos Dr. Ignacio Pirovano, Buenos Aires., Argentina.

Recibido: 29 de septiembre de 2023.

Aprobado: 9 de noviembre de 2023.

Autor corresponsal

Dra. María Agustina Borrone

Monroe 3555

(1428) Buenos Aires

Argentina

draagustinaborrone@gmail.com

Oftalmol Clin Exp (ISSNe 1851-2658)

2023; 16(4): e434-e441.

Agradecimiento

A Gabriela E. Iribarren, bioquímica del Servicio de Microbiología del Hospital General de Agudos Dr. Ignacio Pirovano, por facilitarnos las imágenes para este trabajo.

Resumen

Se considera a la queratitis microbiana como una de las 5 causas principales de ceguera en el mundo. Es esencial determinar la severidad de la infección para tratarla de manera oportuna y evitar tratamientos empíricos que generen mayor resistencia antimicrobiana.

La forma considerada *gold standard* para la detección de microorganismos es el raspado corneal. El análisis de las muestras en el laboratorio microbiológico permite identificar el agente patógeno y realizar un antibiograma para determinar la sensibilidad a diferentes antimicrobianos.

Se describen los pasos del raspado corneal de manera sencilla y clara para que puedan realizarse durante la consulta minimizando los riesgos de contaminación de la muestra. Además, se detallan los pasos a seguir para el envío de muestras por medio de un transporte cuando no hay acceso a la toma en directo. Se destaca la necesidad de mantener estrecho contacto con el laboratorio que analiza las muestras para conocer las preferencias de los bacteriólogos que serán los que en última instancia las analicen.

Conocer la técnica correcta para realizar el raspado corneal es crucial para el diagnóstico y el tratamiento de las queratitis microbianas. Conocer sus ventajas y desventajas ayuda a decidir cuál es la mejor forma de obtención de muestras para obtener mejores resultados en el manejo de las infecciones corneales y reducir sus graves complicaciones.

Palabras clave: infección corneal, toma de muestra corneal, raspado corneal.

Corneal scraping on a slit lamp: how, when, why, and for what purpose is the sample taken?

Abstract

Microbial keratitis is considered one of the top 5 leading causes of blindness worldwide. It is essential to determine the severity of the infection to provide timely treatment and avoid empirical treatments that can lead to increased antimicrobial resistance. The gold standard for detecting microorganisms is corneal scraping. Analyzing the samples in the microbiology laboratory allows for the identification of the causative agent and performing antibiogram testing to determine sensitivity to different antimicrobials. The steps for corneal scraping are described in a simple and clear manner, making it possible to perform during a clinical visit while minimizing the risk of sample contamination.

Furthermore, the process of sample submission in transport media is outlined for situations where direct sampling is not possible. It is emphasized that maintaining close communication with the laboratory analyzing the samples is crucial to understand the preferences of the microbiologists who will ultimately assess the samples.

Understanding the correct technique for corneal scraping is crucial for the diagnosis and treatment of microbial keratitis. Knowing its advantages and disadvantages helps in deciding the best method for sample collection to achieve better results in managing corneal infections and reducing their serious complications.

Keywords: corneal infection, corneal sample, corneal scraping.

Raspagem da córnea na lâmpada de fenda. Como, quando, porquê e com que finalidade a amostra é colhida

Resumo

A ceratite microbiana é considerada uma das 5 principais causas de cegueira no mundo. É funda-

mental determinar a gravidade da infecção para tratá-la em tempo hábil e evitar tratamentos empíricos que gerem maior resistência antimicrobiana. O método *gold standard* (padrão ouro) para detectar microrganismos é raspar a córnea. A análise de amostras no laboratório microbiológico permite a identificação do agente patogênico e um antibiograma para determinar a sensibilidade a diferentes antimicrobianos.

As etapas da raspagem corneana são descritas de forma simples e clara para que possam ser realizadas durante a consulta, minimizando o risco de contaminação da amostra. Além disso, aqui estão as etapas detalhadas a seguir para enviar amostras por meio de transporte quando você não tiver acesso a amostras vivas. Ressalta-se que é necessário manter contato próximo com o laboratório que analisa as amostras para estabelecer as preferências dos bacteriologistas que irão analisá-las.

Conhecer a técnica correta de realização da raspagem corneana é fundamental para o diagnóstico e tratamento da ceratite microbiana. Conhecer suas vantagens e desvantagens ajuda a decidir qual a melhor forma de obtenção de amostras para obter melhores resultados no manejo das infecções da córnea e reduzir suas complicações graves.

Palavras-chave: infecção corneana, amostragem corneana, raspagem corneana.

Introducción

La queratitis microbiana se define como la infección de la córnea. Su incidencia varía entre 1,5-2 millones de casos en los países en desarrollo¹.

Aunque el tratamiento médico que se aplique para resolver la infección sea el correcto, pueden ocurrir complicaciones y algunas de ellas pueden ser graves. Las queratitis microbianas son unas de las 5 causas principales de ceguera a nivel mundial. Por este motivo la detección precoz, el diagnóstico etiológico y el tratamiento oportuno son imprescindibles². Una vez que reconocemos clínicamente una infección corneal es necesario poder determinar su severidad para entender si es posible realizar un tratamiento empírico o si necesitamos realizar estudios más complejos

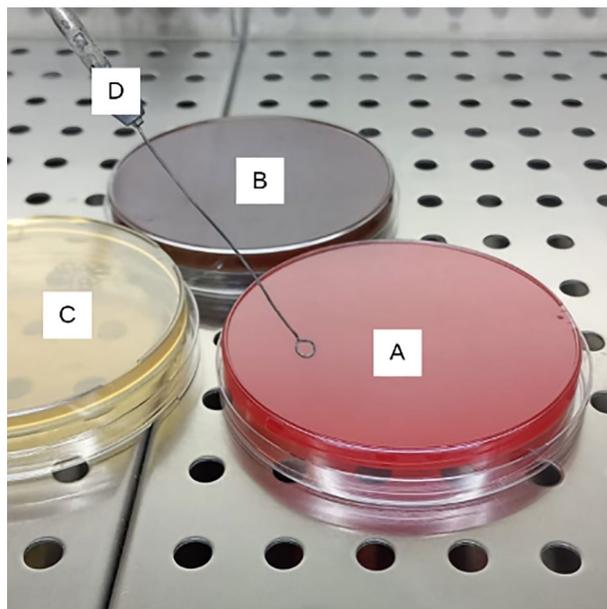


Figura 1. Placas de cultivo agar sangre (A), agar chocolate (B), Sabouraud (C) y ansa (D). *Cortesía de Gabriela Iribarren, bioquímica del Hospital General de Agudos Dr. Ignacio Pirovano.*

como la toma de muestra corneal. Esta es la muestra que se obtiene a partir de una úlcera corneal infectada. Puede realizarse en la lámpara de hendidura o en quirófano según la colaboración del paciente, su edad y la complejidad de cada caso.

Un grupo de oftalmólogos describió un nuevo algoritmo que nos ayuda a decidir en qué momento realizar la toma de muestra corneal o derivar a un paciente para la realización de este procedimiento teniendo en cuenta el posible compromiso visual.

Para esto, Vital y asociados proponen la regla 1-2-3 ACT (por las siglas en inglés *Assessment, Culture, Treatment*). Se incluyen los siguientes criterios:

1. Una o más células en cámara anterior, o más de 10 células tomadas con el haz de 1 mm.
2. Infiltrado mayor a 2 mm (en su mayor diámetro) o 2 o más lesiones adyacentes.
3. Borde de la lesión dentro de los 3 mm del centro corneal.

Aquellas lesiones que no cumplan ninguno de los criterios pueden iniciar tratamiento empírico con una fluoroquinolona de cuarta generación y controles periódicos.

En caso de que las lesiones cumplan alguno de estos criterios, se procede a la toma de muestra de

la lesión corneal para luego iniciar el tratamiento con colirios fortificados y derivar a especialista en córnea dentro de las próximas 24 a 36 horas³.

El objetivo del presente trabajo es describir el procedimiento técnico de adquisición de una muestra corneal para posteriormente discutir conceptos básicos y prácticos para responder cuándo, por qué y para qué se deben tomar muestras de este tipo.

Descripción de procedimiento: técnica para el raspado corneal

Para realizar correctamente el raspado corneal deben seguirse una serie de pasos.

Se deben tener en cuenta ciertas consideraciones y cuidados a la hora de obtener el material. Todo procedimiento a realizar sobre un paciente debe acompañarse del acto médico explicativo correspondiente y la firma de un consentimiento informado.

La técnica consiste en una serie de pasos que se describen a continuación para optimizar la obtención de las muestras y minimizar su contaminación:

1. Antes de iniciar la práctica se debe preparar todo el material que se utilizará. Los elementos para el raspado corneal, los portaobjetos y los cultivos.

Para el raspado corneal pueden utilizarse:

- Espátula de Kimura, debe estar previamente esterilizada con calor.
- Ansa esterilizada con calor (fig. 1).
- Hoja de bisturí número 15 descartable, ya que su punta redondeada hace más sencilla la recolección de la muestra. Debe colocarse en un porta bisturí (mango Bard Parker) para su mejor manipulación. La espátula y el bisturí pueden facilitar la toma de muestra de capas más profundas, desbridar el área infectada y así facilitar la penetración de los antibióticos.
- Aguja 23G estéril y descartable.
- Hisopo estéril embebido previamente en alginato de calcio. Estos tienen mayor poder absorbente dando —según algunos reportes— tasas más altas de cultivos positivos,

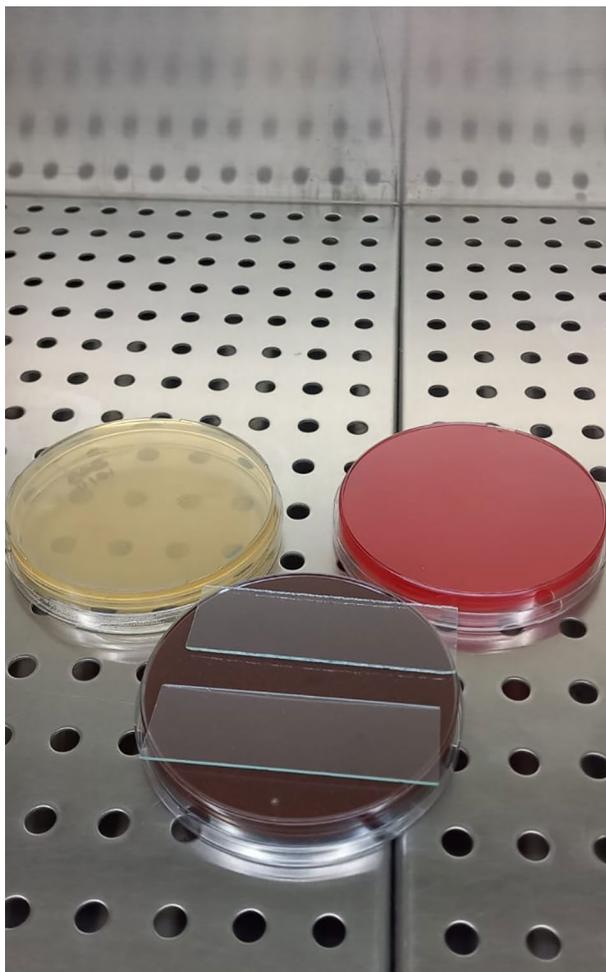


Figura 2. Portaobjetos sobre cultivos sólidos agar chocolate. *Cortesía de Gabriela Iribarren, bioquímica del Hospital General de Agudos Dr. Ignacio Pirovano.*

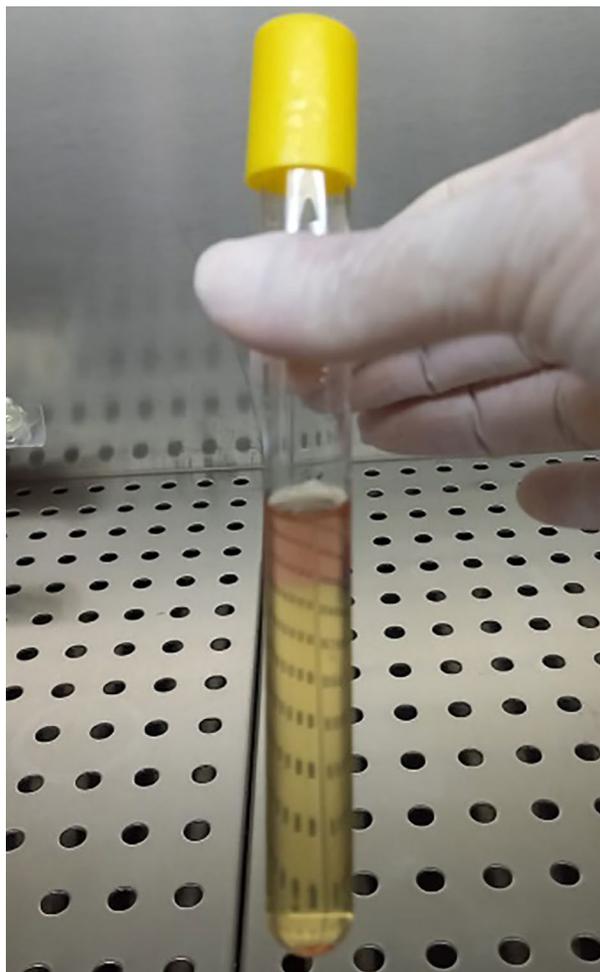


Figura 3. Caldo tioglicolato. *Cortesía de Gabriela Iribarren, bioquímica del Hospital General de Agudos Dr. Ignacio Pirovano.*

pero las muestras son más superficiales que las obtenidas con los otros instrumentos.

- Se solicitan al servicio de bacteriología:
 - ♦ Dos o tres portaobjetos (fig. 2) donde se realizarán tinciones de Gram, KOH y alguna otra tinción alternativa según corresponda. Los portaobjetos deben estar marcados con marcador indeleble del lado contrario adonde se colocará el material y deben colocarse los datos completos del paciente (nombre y apellido, número de historia clínica, fecha de nacimiento y ojo de donde se obtuvo la muestra).
 - ♦ Cultivos sólidos: agar sangre, agar chocolate, agar papa dextrosa (PDA, por sus siglas en inglés) o agar Sabouraud (SDA)

y agar sin nutriente (NNA) para enriquecer con *Escherichia Coli* en caso de sospecha de *Acanthamoeba* (fig. 1).

- ♦ Cultivos líquidos: BHI (infusión de cerebro y corazón), CMB (medio de carne cocida), tioglicolato (fig. 3), entre otros.
 - ♦ Todos los cultivos deben estar a temperatura ambiente al iniciar el procedimiento. Debemos etiquetar correctamente los cultivos con nombre y apellido del paciente, así como número de historia clínica y el ojo del paciente del cual se obtendrá la muestra.
2. El profesional debe lavarse las manos y utilizar guantes estériles durante todo el procedimiento para minimizar la contaminación.

3. De ser posible no colocar antibióticos tópicos desde las 24 horas anteriores.
4. Explicar el procedimiento al paciente. Se debe instruir para que no parpadee. La técnica se realiza de forma bimanual y se ayuda a mantener el ojo abierto con la mano contralateral a la que está realizando el método. Se puede colocar un blefaróstat. En caso de pacientes no colaboradores o niños, se puede realizar en quirófano bajo anestesia general.
5. Colocar anestésico tópico antes de iniciar el procedimiento (proparacaína 0,5% posee el menor efecto inhibitorio en la recuperación de microorganismos).
6. Se posiciona al paciente cómodamente en la lámpara de hendidura.
7. Antes de comenzar se debe eliminar y descartar todo el material purulento y detritos de alrededor de la lesión con un hisopo estéril.
8. Evitar las pestañas y los párpados para no contaminar las muestras.
9. El raspado de la lesión corneal debe realizarse a lo largo del borde y la base de la lesión. Deben obtenerse múltiples muestras de todas las áreas de la ulceración para obtener el máximo rendimiento. Se debe tener especial cuidado en casos de descemetocele donde las muestras pueden ser limitadas dada la fragilidad del tejido. En caso de muestras escasas, lo ideal es realizar examen directo (portaobjetos), un cultivo sólido y uno líquido.
10. *En los portaobjetos:* se preparan láminas microscópicas de raspados de córnea. Las muestras deben colocarse en el centro de la lámina sobre un área de aproximadamente 1 cm de diámetro. Círculos pregrabados en la lámina permiten una colocación fácil del material en una ubicación central para su posterior localización. Deben obtenerse al menos dos láminas microscópicas para tinciones de rutina.
11. En las placas de cultivo se inocula el material pasando ligeramente el instrumento sobre la superficie para producir una fila de marcas de inoculación separadas en una configuración de "C" (marcas en forma de C). El método de inoculación en forma de C proporciona un medio para distinguir el crecimiento



Figura 4. Medio de transporte. Cortesía de Gabriela Iribarren, bioquímica del Hospital General de Agudos Dr. Ignacio Pirovano.

válido de la contaminación en la placa. El crecimiento en la marca en forma de C se considera significativo, mientras que el crecimiento cerca del borde de la placa, por fuera de las marcas en forma de C, probablemente representa contaminación. Se debe intentar no cortar el medio de cultivo con la punta del instrumento ya que esto dificulta el análisis de la muestra.

12. En los cultivos líquidos se debe inocular girando la punta de la espátula varias veces.
13. En algunos casos el epitelio corneal puede estar intacto o mínimamente alterado y es necesario romper el epitelio corneal, utili-

Tabla 1. Clasificación de severidad modificada de Jones.

Características	Leve	Moderada	Severa
Tamaño	< 2 mm	2,5 mm	> 5mm
Profundidad	< 20%	20,50%	> 50%
Infiltrado estromal	Denso superficial	Denso hasta la mitad del estroma	Denso profundo
Compromiso escleral			Presente

Extraída de Gurnani B, Kaur K. Bacterial keratitis⁷.

zando el bisturí para acceder al sitio de la infección.

14. Una vez terminado el procedimiento descartar los elementos cortopunzantes en los contenedores correspondientes.
15. En caso de que los extendidos sean negativos, se puede volver a tomar la muestra para realizar otras tinciones específicas como la tinción de Ziehl Neelsen.
16. El uso de medios de transporte (método indirecto) (fig. 4) permite tomar la muestra y enviarla a centros especializados para su análisis cuando no tenemos acceso a realizar el examen directo (extendidos y cultivos). Se deben utilizar medios de transporte sin carbón. Esto permite luego la preparación para su evaluación. Se recomienda su envío inmediatamente al laboratorio o conservar refrigerado por no más de 2-4 horas⁴, aunque algunos estudios sugieren que las muestras son viables hasta 24 horas posteriores a la colocación en los medios de cultivo⁵.
17. En caso de requerir enviar las muestras para realizar PCR (reacción en cadena de la polimerasa), lo ideal es realizarlas directamente y colocarlas en un tubo de Eppendorf que contiene el buffer correspondiente, manteniéndolas a bajas temperaturas hasta su procesamiento. En caso de no contar con este medio, pueden enviarse en hisopos estériles, pero siempre es importante la comunicación previa con el centro que recibe las muestras para evitar pérdida de material. En algunos centros aceptan muestras en hisopos de dacrón o rayón, pero no hisopos de algodón. Estas muestras pueden enviarse en un plazo

de 2 horas desde la recolección a temperatura ambiente o refrigerada si se anticipa un tiempo de traslado más largo en un medio de transporte.

Discusión

Las queratitis microbianas se clasifican de acuerdo con el tamaño, con su extensión en profundidad, con la presencia de infiltrado estromal y con el compromiso escleral (tabla 1)⁶.

En las lesiones consideradas leves puede realizarse tratamiento empírico. En las moderadas a severas se necesita la toma de muestra a través del raspado corneal y el tratamiento específico.

La Academia Americana de Oftalmología sugiere que se debe obtener material de lesiones mayores a 2 mm que se encuentren cercanas al centro de la córnea, que estén asociadas a melting estromal, que sean refractarias a tratamiento empírico en pacientes con antecedentes de cirugía corneal, que presenten múltiples y difusos infiltrados estromales o que tengan una presentación atípica sugestiva de infección amebiana, fúngica o por micobacterias⁸.

También el algoritmo 1-2-3 ACT nos ayuda a definir la severidad de la infección y la manera de actuar ante ella³. Aunque se conocen las ventajas de la obtención de muestras para el análisis bacteriológico en infecciones corneales, la falta de acceso al material y el tiempo y los recaudos que se necesitan para realizar el procedimiento de raspado corneal, han desalentado a muchos médicos a llevar a cabo estas prácticas y a tratar las infecciones corneales de forma empírica^{5,9}.

Dado que la resistencia antimicrobiana se encuentra en aumento debemos tener cuidado al seleccionar los tratamientos empíricos¹⁰.

Es importante que conozcamos la técnica correcta para poder realizar el raspado corneal, así como saber cuáles son los instrumentos que se utilizan solamente para el raspado y cuáles como medios de transporte¹¹.

De esta manera maximizamos la posibilidad de obtener material, minimizamos los riesgos de la contaminación y mejoramos las tasas de detección de microorganismos¹². Los métodos de obtención de muestra a partir del raspado pueden ser directos, en los cuales la muestra del raspado corneal se inocula directamente en los portaobjetos y cultivos; o indirectos, cuando se colocan en un medio de transporte¹³.

La cantidad de portaobjetos enviados al laboratorio para las tinciones dependerá de la sospecha diagnóstica. Clásicamente se envían 2 muestras, pero una tercera permite la versatilidad en las tinciones¹⁴.

Los cultivos que disponemos dependen del laboratorio microbiológico con el que trabajamos¹⁵⁻¹⁶.

La tasa de cultivos positivos luego de la toma de muestra corneal varía entre el 38% y el 66% según los diferentes estudios¹⁷.

Algunos trabajos destacan que el sembrado directo en cultivos selectivos aumenta las posibilidades de recuperación de los microorganismos, especialmente cuando su cantidad es escasa. Esta técnica se considera el método estándar¹⁸ y además de la detección del microorganismo el cultivo permite evaluar la sensibilidad microbiana a diferentes antibióticos y la resistencia.

Otros trabajos destacan el uso de medios de transporte⁵. Cuando los cultivos son negativos luego de 7 días se puede realizar un nuevo raspado corneal para volver a cultivar. Si luego de 14 días los cultivos continúan siendo persistentemente negativos podremos proponer una biopsia corneal para su análisis con un anatomopatólogo¹⁹.

Cuando no es posible la toma de muestra directa sobre los cultivos, se puede enviar la muestra en un medio de transporte al laboratorio microbiológico. Esto se considera una gran

oportunidad pero presenta ciertas desventajas, entre ellas encontramos:

- el tiempo que tarda la muestra en llegar al laboratorio, la baja viabilidad de algunas bacterias en ciertos sistemas de transporte
- el potencial crecimiento excesivo de organismos más potentes y el subdesarrollo de algunos organismos en infecciones polimicrobianas
- la incapacidad para descartar contaminantes cuando el medio de transporte es subcultivado
- el crecimiento excesivo de contaminantes del patógeno
- recuentos inválidos de colonias si la proporción de un organismo a otro en una infección polimicrobiana no se mantiene durante el transporte⁵.

Por otro lado, el envío de muestras para PCR requiere de una comunicación directa con el centro que analizará las muestras^{4, 20}.

La PCR es rápida, requiere de poco tejido, pero amplifica cualquier muestra, por lo tanto no se puede saber si el microorganismo que crece es contaminante o es el microorganismo causal. Además puede detectar microorganismos viables y no viables. Otra desventaja de la PCR es su alto costo, tiene baja disponibilidad y no puede testear la susceptibilidad antibiótica como en el caso de los cultivos²⁰⁻²².

En caso de no tener acceso directo al servicio de bacteriología en nuestro lugar de trabajo, es importante conocer los centros que realizan análisis microbiológico que están cercanos y a los cuales podemos tener acceso. Tener una comunicación fluida con los bacteriólogos es imprescindible para que nos orienten sobre sus preferencias a la hora de enviar muestras corneales en el caso de que no se pueda realizar una muestra y siembra directa, ya que son ellos los que analizarán las muestras y dependen de una correcta recolección.

Conclusión

En el presente trabajo quedaron desarrollados detalladamente los pasos del raspado corneal para lograr la correcta toma de muestra. Además, se

discutieron las ventajas y desventajas de las muestras directas e indirectas.

Conocer estos pasos nos permitirá mejorar el manejo de las infecciones corneales y su tratamiento, y así lograr obtener mejores resultados finales con menos complicaciones.

Referencias

- Alkatan HM, Al-Essa RS. Challenges in the diagnosis of microbial keratitis: a detailed review with update and general guidelines. *Saudi J Ophthalmol* 2019; 33: 268-276.
- O'Brien KS, Lietman TM, Keenan JD, Whit-cher JP. Microbial keratitis: a community eye health approach. *Community Eye Health* 2015; 28: 1-2.
- Ung L, Wang Y, Vangel M *et al.* Validation of a comprehensive clinical algorithm for the assessment and treatment of microbial keratitis. *Am J Ophthalmol* 2020; 214: 97-109.
- Mitra S, Chandran K, Fernandes M. Practical tips and common mistakes in ocular microbiology sampling and processing. *Indian J Ophthalmol* 2023; 71: 1698-1705.
- McLeod SD, Kumar A, Cevallos V *et al.* Reliability of transport medium in the laboratory evaluation of corneal ulcers. *Am J Ophthalmol* 2005; 140: 1027-1031.
- Harrison SM. Grading corneal ulcers. *Ann Ophthalmol* 1975; 7: 537-539, 541-542.
- Gurnani B, Kaur K. Bacterial keratitis. En: *StatPearls* [en línea]. Treasure Island: StatPearls Publishing, updated: 2023 June. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK574509/>.
- Lin A, Rhee MK, American Academy of Ophthalmology Preferred Practice Pattern Cornea and External Disease Panel. Bacterial keratitis Preferred Practice Pattern®. *Ophthalmology* 2019; 126: P1-P55.
- Sagerfors S, Karakoida C, Sundqvist M *et al.* Corneal culture in infectious keratitis: effect of the inoculation method and media on the corneal culture outcome. *J Clin Med* 2021; 10: 1810.
- Moledina M, Roberts HW, Mukherjee A *et al.* Analysis of microbial keratitis incidence, isolates and in-vitro antimicrobial susceptibility in the East of England: a 6-year study. *Eye (Lond)* 2023; 37: 2716-2722.
- Jacob P, Gopinathan U, Sharma S, Rao GN. Calcium alginate swab versus Bard Parker blade in the diagnosis of microbial keratitis. *Cornea* 1995; 14: 360-364.
- Ting DSJ, Gopal BP, Deshmukh R *et al.* Diagnostic armamentarium of infectious keratitis: a comprehensive review. *Ocul Surf* 2022; 23: 27-39.
- Kaye SB, Rao PG, Smith G *et al.* Simplifying collection of corneal specimens in cases of suspected bacterial keratitis. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 3192-3197.
- Basheer N. Scraping in corneal ulcers. *Kerala J Ophthalmol* 2020; 32: 97-101.
- Ngo J, Khoo P, Watson SL. Improving the efficiency and the technique of the corneal scrape procedure via an evidence based instructional video at a quaternary referral eye hospital. *Curr Eye Res* 2020; 45: 529-534.
- Acharya M, Farooqui JH, Jain S, Mathur U. Pearls and paradigms in infective keratitis. *Rom J Ophthalmol* 2019; 63: 119-127.
- Cabrera-Aguas M, Khoo P, Watson SL. Infectious keratitis: a review. *Clin Exp Ophthalmol* 2022; 50: 543-562.
- Moshirfar M, Hopping GC, Vaidyanathan U *et al.* Biological staining and culturing in infectious keratitis: controversy in clinical utility. *Med Hypothesis Discov Innov Ophthalmol* 2019; 8: 145-151.
- Ficker L, Kirkness C, McCartney A, Seal D. Microbial keratitis: the false negative. *Eye (Lond)* 1991; 5: 549-559.
- Panda A, Pal Singh T, Satpathy G *et al.* Comparison of polymerase chain reaction and standard microbiological techniques in presumed bacterial corneal ulcers. *Int Ophthalmol* 2015; 35: 159-165.
- Zemba M, Dumitrescu OM, Dimirache AE *et al.* Diagnostic methods for the etiological assessment of infectious corneal pathology (review). *Exp Ther Med* 2022; 23: 137.
- Oxford University Hospitals (United Kingdom). *Eye samples* [en línea]. Oxford: OUH, reviewed: 17 February 2023. Disponible en: <https://www.ouh.nhs.uk/microbiology/a-z/eye-samples.aspx>.